

【発行国】

日本国特許庁（J P）

【公報種別】 (19) 日本国特許庁（J P）

(12) 公開特許公報（A）

(11) 特許出願公開番号

特開平10-151188

(43) 公開日 平成10年(1998) 6月9日

公開特許公報（A）

(51) Int.Cl.<sup>8</sup>

識別記号

F I

A 61 L 27/00

A 61 L 27/00

J

【公開番号】

特開平10-151188

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L（全 7 頁）

(21) 出願番号

特願平8-310986

(71) 出願人 000006877

山之内製薬株式会社

東京都中央区日本橋本町2丁目3番11号

(72) 発明者 大浦 好一郎

大阪府大阪市東住吉区駒川1丁目10-10

(74) 代理人 弁理士 長井 省三（外1名）

【公開日】

(22) 出願日

平成8年(1996)11月21日

特許法第30条第1項適用申請有り 平成8年8月25日  
平成10年(1998)6月9日 科学会雑誌 第70巻第8号」に発表

【発明の名称】

骨形成用移植体

(54) 【発明の名称】 骨形成用移植体

【国際特許分類第6版】

(57) 【要約】

【課題】 成形性並びに手術時の操作性に優れ、更に生体  
A61L 27/00での形状維持も良好で、且つ新生骨形成能に優れた骨  
形成用移植体。

【F I】 【解決手段】 生体吸収性リン酸カルシウムセメント、殊  
にβ-トリカルシウムフォスフェート（β-TCP）及  
A61L 27/00のモノカルシウムフォスフェートモノハイドレート（M  
CFM）を含むリン酸カルシウムセメントと骨誘導因子

【審査請求】 を含むことを特徴とする骨形成用移植体。

【請求項の数】 5

【出願形態】 O L

【全頁数】 7

【出願番号】

特願平8-310986

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】生体吸収性リン酸カルシウムセメントと骨誘導因子を含むことを特徴とする骨形成用移植体。

【請求項2】生体吸収性リン酸カルシウムセメントが $\beta$ -トリカルシウムフォスフェート( $\beta$ -TCP)及びモノカルシウムフォスフェートモノハイドレート(MCPM)を含むリン酸カルシウムセメントである請求項1記載の骨形成用移植体。

【請求項3】リン酸カルシウムセメントが、更にカルシウムサルフェートヘミハイドレート(CSH)を含む $\beta$ -TCP-MCPM-CSHセメントである請求項2記載の骨形成用移植体。

【請求項4】リン酸カルシウムセメントが固化したブロック状のセメントである請求項1記載の骨形成用移植体。

【請求項5】リン酸カルシウムセメントがペースト状若しくは粘土状のセメントである請求項1記載の骨形成用移植体。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、生体吸収性リン酸カルシウムセメントと骨誘導因子を含むことを特徴とする骨形成用移植体に関する。

## 【0002】

【従来の技術】骨誘導因子(bone morphogenetic protein:BMP)は、皮下組織又は筋組織内の未分化間葉系細胞に作用して、これを軟骨芽細胞又は骨芽細胞に分化させ、軟骨又は骨を形成させる活性タンパク質である。BMPは、ウシ脱灰骨基質中に存在する異所性骨誘導活性を示す物質として発見されたが、純粋に単離されず、具体的な構造は未解明のままであった。しかし、遺伝子工学の技術により、ヒトBMPをコードする遺伝子がクローニングされ、アミノ酸配列が明らかになった。また、ヒトBMPは、アミノ酸配列が相同性を有する複数の近縁タンパク質からなる一群のファミリーを構成することも判明し、多数の種類との組換えヒト骨誘導因子(rhBMP)が創製されてきた(Science Vol. 242, pp. 1528-1534 (1988); Proc. Natl. Acad. Sci. USA Vol. 87, pp. 2220-2224 (1990); Progress in Growth Factor Research, Vol. 1, pp. 267-280 (1989); 特表平2-500241号、特表平3-503649号、特表平3-505098号、WO91/18098、WO92/05199、WO93/09229の各公報)。また、形質転換体による生産も行われている。

【0003】前記のBMPを利用して、骨又は軟骨の損傷、欠損あるいは形成不全等の治療を行う方法は、そのBMPの構造が未解明であった頃から種々提案されてお

り、組換えヒトBMPの生産に伴って更に盛んになっている。BMPを利用する際には、BMPを単独で局所に埋植して骨形成を誘導させることが極めて困難であるので、一般的には、BMPを担体に担持させた形で局所に埋植する。このように、BMP用担体はBMPと共に生体内に埋植されるので、BMP活性を損なわずに、低毒性、低発癌性及び低抗原性等の特性を有することが要求される。

【0004】既に提案されている技術としては、例えば、アテロコラーゲンからなる担体にBMPを担持させた移植体(特開昭62-89629号公報)や、rhBMPと多孔性生体分解性ポリマーと自家血とからなる組成物(米国特許第5,171,579号明細書)等が知られている。しかし、BMPとコラーゲン担体のみからなる移植体や多孔性生体分解性ポリマーと自家血とからなる組成物は強度が強く形状維持も不十分であった。

【0005】また、セラミックス材料支持体にBMPとコラーゲン担体とを含浸させた移植体(特開昭60-253455号公報)、BMPとヒドロキシアパタイト及び $\beta$ -トリカルシウムフォスフェートからなる二相性リン酸カルシウム(BCP)とを含む骨形成用移植体(特開平7-246235号公報)等が知られている。セラミック材料等の非分解性あるいは分解の遅い物質を支持体として用いた場合はこれらの物質が生体に吸収されずに長時間生体内に残留し、均一な骨組織の形成が遅くなる。更に、ブロック状のこれらの移植体は、比較的大きな骨欠損部位には適するが、比較的小きな欠損あるいは形状の複雑な欠損においては当該欠損部に適合した形状に成形することが容易ではない。更に顆粒状の場合は移植後の形状維持の点で更に改善が望まれている。

【0006】従って、骨欠損部の形状に容易に適合する成形性を有し手術時の操作性に優れ、更に生体内での形状維持も良好で、且つ、新生骨形成に優れたBMPを適用した骨形成用移植体が切望されていた。一方、W. Brown等はテトラカルシウムフォスフェートとジカルシウムフォスフェート等を水とともに混合させることにより、わずかな時間で硬化したセメント状のヒドロキシアパタイトとなることを見出し、これらが歯科利用の骨セメントとしてあるいは骨欠損部用のインプラントとして有用であることを開示している(アメリカ特許RE33161号特許明細書、WO94/20064号公報)。

【0007】その後、生体吸収性を有するリン酸カルシウムセメントも報告され、歯若しくは骨の欠損部に適用する移植体として注目されている。例えば、モノカルシウムフォスフェートモノハイドレート(MCPM)、 $\alpha$ -トリカルシウムフォスフェート( $\alpha$ -TCP)、カルシウムカーボネート(CC)の混合物からなるMCPM- $\alpha$ -TCP-CCセメント(B. R. Constantz等、Science、267、1796-99 (1995))、 $\beta$ -トリカルシウムフォスフェート( $\beta$ -

(TCP)及びモノカルシウムフォスフェートモノハイドレート(MCPM)の混合物からなる $\beta$ -TCP-MCPMセメント(J. Mirtchi, J. Lemaitra等, Biomaterials, 10, 475-480(1989))及び $\beta$ -トリカルシウムフォスフェート( $\beta$ -TCP)-モノカルシウムフォスフェートモノハイドレート(MCPM)-カルシウムサルフェート(CSH)の混合物からなる $\beta$ -TCP-MCPM-CSHセメント(K. Ohura, J. Lemaitra等, J. Biomedical Materials Res. 30, 193-200(1996))等が挙げられる。これらのセメントは水と混合したペースト状で骨欠損部に注入することも可能であり、生体内で固化する。更に生体吸収性を有することより、新生骨と置換しうるということが開示されている。しかしながらこれらのセメントのみの移植では新生骨の形成は遅く、更に早期に新生骨に置換する移植体が切望されている。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】本発明者等は、移植が容易で手術時の操作性に優れ、しかも生体内で良好にその形状を維持し、且つ、新生骨形成に優れ、移植体自体は新生骨に置換容易な性質を併せ持つ、骨形成用移植体の創製を目的として、鋭意研究した結果、生体吸収性リン酸カルシウムセメント、殊に $\beta$ -トリカルシウムフォスフェート( $\beta$ -TCP)及びモノカルシウムフォスフェートモノハイドレート(MCPM)を含むリン酸カルシウムセメントと骨誘導因子を含むことを特徴とする骨形成用移植体で、前記目的を達成することを見出し本発明を完成した。

【0009】

【課題を解決するための手段】即ち本発明は、生体吸収性リン酸カルシウムセメント、殊に $\beta$ -TCP及びMCPMを含むリン酸カルシウムセメントと骨誘導因子を含むことを特徴とする骨形成用移植体に関する。好ましくは、リン酸カルシウムセメントが固化したブロック状のセメントである骨形成用移植体を含む $\beta$ -TCP-MCPM-CSHセメントである骨形成用移植体である。また、リン酸カルシウムセメントが固化したブロック状のセメントである骨形成用移植体、及び、リン酸カルシウムセメントが固化する前のペースト状若しくは粘土状のセメントである骨形成用移植体が好ましい。

【0010】本発明の生体吸収性リン酸カルシウムセメントは後記するように適量の水を加えるとペースト状となり、短時間で殆ど発熱することなく固化し多孔質のブロック状のセメントを形成する。従って、本発明の骨形成用移植体は、固化したブロック状のリン酸カルシウムセメントに骨誘導因子を担持した骨形成移植体であってもよいし、移植後移植部位で固化するように水を添加された固化する前のペースト状若しくは粘土状のリン酸カルシウムセメントに骨誘導因子を担持した骨形成用移植

体であってもよい。

【0011】本発明の骨形成用移植体は、所望の形状の型により固化することも可能であるので、複雑な形状にも成形が容易である。また、固化する前のペーストあるいは粘土状での埋め込み、更には注入等によっても移植可能であり、手術時の操作性に優れる。しかも生体内では固化して一定の強度を有し、良好に形状を維持可能であり、且つ、新生骨形成に優れ、移植体自体は生体吸収性で徐々に新生骨に置換される。このような優れた性質を併せ持つ骨形成用移植体は全く新規なものである。

【0012】

【発明の実施の形態】以下、本発明を詳細に説明する。本発明で使用するができる生体吸収性リン酸カルシウムセメントは公知のもの、例えば、MCPM- $\alpha$ -TCP-CCセメント(B. R. Constantz等, Science, 267, 1796-99(1995))、 $\beta$ -TCP-MCPMセメント(J. Mirtchi, J. Lemaitra等, Biomaterials, 10, 475-480(1989))、 $\beta$ -TCP-MCPM-CSHセメント(K. Ohura, J. Lemaitra等, J. Biomedical Materials Res. 30, 193-200(1996))等が挙げられ、これらは文献に開示された方法並びに当業者に容易なそれらの変法で容易に製造しうるものである。

【0013】本発明の生体吸収性リン酸カルシウムセメントの生体吸収性は、その種類、大きさや移植部位によっても異なるが、新生骨との置換性の点から、少なくとも1〜2年以内、好ましくは数週〜数ヶ月程度で生体内で完全に吸収されるものであることが望ましい。従って、本発明のリン酸カルシウムセメントとしては、生体吸収性が良好であるセメント、具体的には、 $\beta$ -TCP-MCPMセメント、特に $\beta$ -TCP-MCPM-CSHセメントが好ましい。

【0014】以下、本発明に使用しうる $\beta$ -TCP-MCPMセメントに関して詳細に説明する。これらに使用される $\beta$ -TCPとしては、 $\alpha$ -TCPの含有量が30%以下、好ましくは15%以下の $\beta$ -TCPであり、その平均粒子径は500 $\mu$ m以下、好ましくは350 $\mu$ m以下である。 $\beta$ -TCP-MCPMセメントにおける、 $\beta$ -TCP(平均粒子径500 $\mu$ m以下)に対するMCPMの混合量は水を添加して固化する量であればいずれでもよいが、好ましくは重量比で0.05〜2倍量、より好ましくは0.1〜0.8倍量である。更に好ましくは0.2〜0.4倍量である。更に、CSHを含む場合は、その $\beta$ -TCPとMCPMの混合物に対する比率は水を添加して固化する量であればいずれでもよいが、好ましくは重量比で、0.6倍量以下、より好ましくは0.05〜0.5倍量である。更に好ましくは0.1〜0.3倍量である。

【0015】強度の改善と溶解促進のため粒子径の大きな、即ち $500\mu\text{m}\sim 5\text{mm}$ 程度の粒子径を有する $\beta$ -TCP粒子を更に加えてもよい。特に $500\sim 1000\mu\text{m}$ の $\beta$ -TCP粒子を更に加えることが好ましい。当該粒子径の大きな $\beta$ -TCP粒子は固化反応には殆ど寄与しないが、これらの添加により固化したセメントの強度の改善と粒径比の変更による吸収速度の促進を図ることが可能である。当該大きな $\beta$ -TCP粒子の混合比は、用いる $\beta$ -TCP粒子の粒子径によって適当な比率に調整される。更に必要とする強度及び又は生体内に移植したときの生体吸収速度を考慮して、混合比は調整される。好ましくは他のセメント成分に対して重量比で、2倍量以下、好ましくは1倍量以下、特に好ましくは0.1～0.8倍量である。セメントを固化するのに使用される水は、当該分野で使用される精製水、注射用精製水等が使用される。BMPを含む緩衝液、その他の添加成分を混合した水溶液、或いはセメント固化遅延作用を有するヒロリソ酸カルシウム添加溶液であってもよい。水の添加量はセメントを固化しうる範囲の量であればよく、セメントの各成分の混合比並びに含まれる大きな粒子径の $\beta$ -TCP粒子の量によっても異なるが、好ましくは、セメント成分（水以外の構成成分）に対して重量比で0.3～1.5倍量である。より好ましくは0.3～1倍量である。 $\beta$ -TCP-MCPCMセメントは、水を加えることにより反応し殆ど発熱を伴わず短時間（数分～数時間、好ましくはおよそ5～10分）でブロック状に固化する。これは、水の添加により $\beta$ -TCP及びMCPCMは水と反応しジカルシウムフォスフェートシハイドレート(DCPD)を生成し、この結晶が残存する $\beta$ -TCPの粒子を結合し多孔質の固体を形成することによって起こることが報告されている。更に、添加されたCSHはセメントの固さを差延させるとともに、微粒子による微細構造の発達を促し固化したセメントの強度の増加に寄与する。また、 $\beta$ -TCP-MCPCM-CSHセメントの強度は25～35Mpa程度と報告されている(J. Biomedical Materials Res. 30, 193-200(1996))。

【0016】本発明で使用するこのできる骨誘導因子(BMP)は、未分化の間葉系細胞に作用して、これを軟骨細胞や骨芽細胞へ分化させ、軟骨又は骨を形成させる活性を有するタンパク質であれば特に限定されず、その調製方法も限定されない。しかし、免疫性等の臨床上の安全性及び品質の安定した材料を大量に入手することができる点で遺伝子組換え技術により製造されたヒトBMPが好ましい。すなわち、ヒト骨誘導因子をコードする塩基配列を含む組換えDNAを含有する形質転換体（細胞又は微生物）を培養し、それら形質転換体によって産生された組換えヒト骨誘導因子を単離、精製して調製した組換えヒト骨誘導因子(rhBMP)である。こ

れらのヒト骨誘導因子(rhBMP)としては、例えば、rhBMP-2、rhBMP-3、rhBMP-4(rhBMP-2Bともいう)、rhBMP-5、rhBMP-6、rhBMP-7、rhBMP-8、rhBMP-9、rhBMPのヘテロダイマー又はこれらの改変体や一部欠損体を行なうことができる。これらのタンパク質を単独で又は2種以上の混合物として用いることができる。好ましくはrhBMP-2である。

【0017】これらのrhBMPは、哺乳動物細胞（例えば、CHO細胞）、微生物（例えば、大腸菌）又は酵母細胞等で発現したものであることができる。既に大量生産法及び精製法が確立しているrhBMPとしてはrhBMP-2があるが、その他のrhBMPを同様に製造し、精製して用いることができる[Progress in Growth Factor Research, Vol. 1, pp. 267-280(1989)]。既に知られている精製rhBMP-2は、分子量約30,000の二量体タンパク質である。それぞれの単量体は、Asn56残基にハイ・マンノース型の糖鎖を有している[Abstract Sixth International Symposium of the Protein Society, San Diego, CA(1992)]。

【0018】本発明による骨形成用移植体において、移植体1ml当りのBMP添加量は、骨誘導作用を発現する濃度であればいずれでもよいが、rhBMP-2を用いる場合は、通常は $20\mu\text{g}$ 以上、好ましくは $50\sim 20,000\mu\text{g}$ 、より好ましくは $100\sim 1,000\mu\text{g}$ である。本発明のリン酸カルシウムセメントは、BMPを担持させる前に、必要に応じて滅菌処理を施してもよい。滅菌方法は医療上許容される方法であればいずれでもよく、例えば、放射線滅菌、エチレンオキシドガス滅菌や乾熱滅菌が挙げられる。本発明のリン酸カルシウムセメントに骨誘導因子を担持させる方法としては、リン酸カルシウムセメントに水を添加する前、若しくは添加後にBMP溶液を加えて混合する事によって行うことができる。あるいは水を添加する際に同時に添加してもよい。この場合、セメントが固化する際に若干の発熱があるがBMPの活性を失わせることは無い。固化したリン酸カルシウムセメントにBMP溶液を含浸してそのまま移植体としてもよく、その浸透体を凍結乾燥等で乾燥して用いてもよい。乾燥移植体を用いる場合は、使用時（移植時）に注射用水や生理食塩水で潤滑して使用するが、又は乾燥体のまま移植しても速やかに血液で潤滑するのでさつつかない。

【0019】また、BMPを担持させたリン酸カルシウムセメントの周囲に更にリン酸カルシウムセメントを添加してもよい。この方法は少ないBMPでより多くの新生骨を得られる点で有利である。本発明の移植体は、使用時にBMPを担持させ調整されてもよく、あるいはB

MPを招時させた後使用時まで適切な条件下で保存されてもよい。本発明の移植体は、前記以上の成分を含有することができる。これらの所望成分としては、具体的には、安定化剤、保存剤、可溶化剤、pH調整剤、増粘剤等を挙げることができる。また、骨または軟骨形成に有用な追加成分、例えばフィブロネクチン、オステオネクチン、又は非抗原性の不溶性骨マトリックス等を含むこともできる。これらの所望成分は、本発明移植体を製造する好適な段階で適宜好適な方法により添加することができる。

【0020】本発明の移植体は、各種の骨又は軟骨の欠損を修復するために、所望の形状に固化成形し固体として埋め込むほか、ペーストあるいは粘土状で移植部位に埋め込むこともできる。更には注入等によっても移植可能である。移植は、当該分野に知られた方法で行われる。すなわち、従来知られている骨移植と同様に、生体に適用することができる。その目的、用途、適応部位、患者の状態等に応じて、当業者の常法に従って適宜適用することができる。本発明の移植体は、移植された部位において、セメントから溶出するカルシウムイオン、リンイオンとBMPが作用して、移植体を中心としてその周囲を囲むように新生骨が形成される。仮に生じた骨の形状が大きめであっても、再置換を経て望ましい形状に戻ることで差し支えない。また、本発明の移植体は、生体内で吸収されるので、新生骨と置換され、移植手術後の取り出し手術の必要がない。

【0021】本発明による各種の骨形成用移植体は、それらを単独で用いるだけでなく、複数個あるいは複数種を任意に組み合わせて用いてもよい。また、本発明移植体と別の公知移植体とを組み合わせて用いてもよい。本発明移植体の局所への固定、形状の維持、移植体からのBMP拡散の抑制を目的として、あるいは強度が十分でない場合には、他の公知の補強材を併用することもできる。補強材は、例えば、移植体を固定するための生体適合性の膜、例えばコラーゲン膜やGTR法に用いるグアテックス膜又はポリ乳酸膜等、あるいは本発明移植体と生体内組織（特に骨）との固定具、例えば金属プレート、骨結合用ピン又は固定釘等であり、これらの補強材は、必要があれば、骨形成後に、外科的に取り除くこともできる。また、他の公知の移植体と併用して用いてもよい。

【0022】以下の本発明の骨形成用移植体の優れた効果を証明するための試験及び結果を示す。

#### 【0023】移植試験例 1

##### (1) 試験方法

48匹の雄性Sprague-Dawleyラット(9週齢：体重330～360g)にNembutalを腹腔内に投与し麻酔した。右股の大腿骨両側面を切開し、高密度ポリエチレンプレート(4×4×23mm)を直径1.2mmのKirshnerワイヤーで大腿骨の前

方の皮質骨に沿って固定後、デンタルバーを用いて大腿骨の骨幹部に長さ5mmの全骨欠損を作製した。これらのラットを等しく3群に分け、各群について、移植体をこの欠損部に挿入し、切開部を閉鎖した。各群の移植体としては、A群：実施例1で得たrhBMP-2を6.28μg(担体100μl当たり10μg)含有する移植体、B群：実施例1で得たrhBMP-2を1.26μg(担体100μl当たり2μg)含有する移植体、並びにコントロールとしてC群：rhBMP-2を含有しない以外は実施例1と同様に製造したセメントを用いた。

【0024】移植後3、6、及び9週目に、Nembutal麻酔下、それぞれのラットの後ろ足を開排させて、大腿骨のX線写真を撮影した。さらに各グループから2匹を屠殺し、欠損部の組織並びに隣接した骨を組織学的に観察した。組織をPMAA包埋した後、薄切し、密着写真を撮影し、ギムザ液で染色した。ラットの大腿骨を9週目に取り出し、周辺の軟組織、ポリエチレンプレート及びピンを除去した。移植体を移植した右大腿骨並びに非処置の左大腿骨をねじり破壊(failure in torsion)試験に付した。

#### 【0025】(2) 結果

##### 1) X線写真による観察結果

A群：3週後には移植体周囲に豊富な新生骨が形成され、欠損部の骨癒合が見られた。一部には手術時に形成された血腫(プレートを含み込む広い範囲に形成)外壁にも新生骨形成が認められた。6週後には移植体(セメント)の吸収が進み欠損部に形成された新生骨は成熟した。9週後には移植体は殆ど吸収され、骨欠損部は正常な管状骨構造に回復していた。また、周囲に形成された骨はプレートを含む形で成熟した。

B群：3週後には移植体の両端部に豊富な新生骨の形成が観察され、6週後には一部の例で移植体周囲に形成された骨で、欠損部の骨癒合が観察された。9週後には移植体は殆ど吸収され欠損部は回復していた。

C群：3週後には残存する骨の断端部にわずかな新生骨の形成が観察され、移植体は吸収が始まっていた。6週後には移植体の吸収が進行し多少小さくなっていたが、新生骨は両骨端部に形成されているのみであり、癒合は見られなかった。9週後も移植体は形状を保ち、骨欠損は残存したままで、偽関節の形成が見られた。

##### 【0026】i) ねじり破壊試験の結果

9週後において骨癒合した大腿部欠損部の力学的性質(破断強度、変形(どの程度のねじりにより破壊されるか)並びに硬さ(破断強度/変形)を試験した。なお、B群の10例中の6例とC群の10例中の10例は、強度ひずみ曲線(thetorque-angle graphs)において、軟組織の典型的なフラットカーブパターンを呈し、骨癒合を認めなかったため、当該試験結果から除いた。

##### 【0027】

表1 移植9週後の癒合した欠損部の力学的性質

	A群 (n=10)	B群 (n=4)	非処置群 (n=30)
破断強度(Nm)	0.213±0.034	0.089±0.069	0.215±0.003
変形(degrees)	8.000±1.800	9.120±3.558	9.855±2.140
硬さ(Nm/degree)	0.072±0.013*	0.043±0.014	0.052±0.004*

\*: p&lt;0.005

【0028】A群(rhBMP-2高用量群)では、全例で9週後の力学的性状が非処置の大腿骨とほぼ同等に回復し、硬さは非処置群より有意に強かった。B群(rhBMP-2低用量群)では、変形は非処置群と同等程度であるが、破断強度が低く、骨癒合も40%と移植体の骨形成能にrhBMP-2の用量依存性が見られた。

#### 【0029】(3) 考察

以上の結果より、本発明移植体はラットにおける大腿骨欠損モデルにおいて、移植から3週後には良好な新生骨が誘導され、短期間で欠損部の癒合が確認された。本発明移植体は生体内で徐々に吸収されて縮小し、その局所刺激性も低いものであることも認められた。更に、高用量投与群では9週後に移植部位に形成されていた骨組織の力学的性状も通常の骨組織とほぼ同等程度まで回復していたことや、本移植体は、優れた骨誘導能並びに新生骨との置換性を有するものであることが確認された。

【0030】従来、上記と同様の大腿骨欠損モデルにてrhBMP-2(1.4μgまたは11μg)を含有した不活性化ラット骨マトリックス(DBM)10mgのゼラチンカプセルの移植試験をした結果が、Yasko, A. W.等により報告されており、それによれば高用量群においては10例中8例が3週間後から骨癒合したが、低用量群では癒合がなされなかった(J.B.J.S., 1992, 74-A, 659-670)。また、rhBMP-2(9.3μl又は3.1μl)を含有したPLGAマイクロスフェア(径:247μm)と血液を混ぜた担体(38.2μl)の移植試験結果が、Lee, S. C.等により報告されているが、高用量群においては9例中9例で骨癒合し、9週後の骨強度は非処置群の60%であった(J.B.M.R., 28, 1149-1156, 1994)。これらの報告と比較すると、本発明移植体はより少ないrhBMPの含有量においても、その骨欠損の癒合の程度に優れており、また、形成された骨組織の骨強度にも優れていた。従って、本発明移植体は、rhBMPを含有する移植体として実用性の高いものであることが確認された。

#### 【0031】

【実施例】以下、実施例によって本発明を具体的に説明するが、これらは本発明の範囲を限定するものではない。

#### 【0032】実施例 1

粒径350μm以下のβ-TCP 23.1重量部、粒径500μm以上1,000μm以下のβ-TCP 21.4重量部、MCPM(和光純薬より購入)7.1重量部、及びCSH(和光純薬より購入)5.6重量部の混合物に、水42.8重量部を加えて混合し、φ4×5mm、内径φ1.2mmの円筒状に固化成形させた。このシリンダーを乾燥殺菌装置で180°Cで1時間殺菌した。その円筒の内壁に、rhBMP-2(Genetics Institute製(以下の実施例でも使用)) [1mg/mlまたは0.2mg/ml]溶液を滴下して浸透させ、rhBMP-2(6.28μgまたは1.26μg)を含有する本発明移植体を得た。

#### 【0033】実施例 2

粒径350μm以下のβ-TCP 23.1重量部、粒径500μm以上1,000μm以下のβ-TCP 21.4重量部、MCPM 7.1重量部、及びCSH 5.6重量部の混合物を滅菌処理し、これに、rhBMP-2水溶液(200μg/ml)42.8重量部を加えて混合し、ペースト状の本発明移植体を得た。実施例 3 実施例 1のrhBMP-2含有移植体と、同じ組成のセメントペースト(rhBMP-2不含)で包み込むように、所望の形状に成形して移植体を得た。

#### 【0034】

【発明の効果】本発明移植体は、生体内で速やかに骨形成を誘導し、しかも移植体全体が新生骨に早期に置換し、移植体の残存が無く、良好な骨組織を形成(回復)することができ、しかも適応時の操作性及び成形性にも優れている。従って、外傷、疾病又は先天性の異常等によって引き起こされた各種の骨又は軟骨の欠損を修復するために、当該分野に知られた方法で患部に適用することができる。本発明移植体は生体内に移植された際に、起炎性が低く生体適合性に優れており、自然に近い状態で骨又は軟骨の修復が可能になる。

【0035】本発明移植体は、各種の分野に適用することができ、例えば、骨折等の外傷、腫瘍あるいは炎症性、変性ないし壊死性骨疾患等の疾患による骨欠損の治療、脳外科、整形外科あるいは口腔外科手術等の手術に伴う採骨等による骨又は軟骨の欠損部位の修復、各種骨折の治療促進、人工関節、人工骨若しくは人工歯根等の人

工インプラント周囲での骨の形成、人工インプラント使用時の固着促進、脊椎固定促進、脚延長等の整形外科分野における骨の補填、軟骨の再生、関節の再建、形成外

科分野での骨又は軟骨の補填、あるいは歯科領域での骨、軟骨又はセメント質の修復やインプラント使用のための骨の増大等に好適である。

## IMPLANT FOR OSSIFICATION

**Publication number:** JP10151188 (A)  
**Publication date:** 1998-06-09  
**Inventor(s):** OURA KOICHIRO +  
**Applicant(s):** YAMANOUCI PHARMA CO LTD +  
**Classification:**  
- **International:** A61L27/00; A61L27/00; (IPC1-7): A61L27/00  
- **European:**  
**Application number:** JP19960310986 19961121  
**Priority number(s):** JP19960310986 19961121

### Abstract of JP 10151188 (A)

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To facilitate implantation, improve operability at operation time, and excellently maintain its shape in an organism by containing bioabsorptive calcium phosphate cement and a bone induction factor. **SOLUTION:** An implant for ossification contains bioabsorptive calcium phosphate cement and a bone guiding factor. As bioabsorptivity of the bioabsorptive calcium phosphate cement, it is desirable to be a material of being completely absorbed in an organism within at least one to two years. Therefore, bioabsorptively excellent cement, to put it concretely,  $\beta$ -TCP-MCP cement, particularly,  $\beta$ -TCP-MCPM-CSH cement is desirable. The bone induction factor (BMP) is desirable to be human BMP manufactured by a gene recombination technology. That is, it is a recombinational human bone induction factor ( $\gamma$ -BMP) prepared from a phenotypic transformation body containing a recombinational DNA containing base sequence to encode a human bone guiding factor.

Data supplied from the *espacenet* database — Worldwide